

水提醇沉法辅助气相色谱法测定水产预混料中的肌醇

张雅云¹, 谢 勇², 林茂发², 黄何何², 胡朝阳², 吴 凌^{2*}

(1.福建省测试技术研究所, 福建 福州 350003;

2.福建省产品质量检验研究院(国家加工食品检验检测中心), 福建 福州 350015)

摘 要: 本实验通过添加水提醇沉步骤去除水产预混料中的部分杂质, 沉淀离心净化后衍生, 异辛烷萃取后用气相色谱法检测, 减少了杂质的影响和对仪器的损伤, 提高了水产预混料中肌醇检测的准确性。结果表明本实验肌醇在 0.01~0.2 mg 范围内线性良好, 检出限(3S/N)为 1.0×10^{-4} mg, 精密度 RSD 均 $\leq 5\%$, 重复性良好, 加标回收率在 94.1%~108%, 符合水产预混料中肌醇含量测定的要求。

关键词: 肌醇; 水提醇沉; 水产预混料; 气相色谱法

中图分类号: O657.71 文献标识码: A 文章编号: 1009-8143(2026)03-0032-05

Doi: 10.3969/j.issn.1009-8143.2026.03.07

Determination of Myo-Inositol in Aquatic Premixes by Water Extraction – Alcohol Precipitation Assisted Gas Chromatography

Zhang Ya-yun¹, Xie Yong², Lin Mao-fa², Huang He-he², Hu Chao-yang², Wu Ling^{2*}

(1. Fujian Institute of Testing Technology, Fuzhou, Fujian 350003, China;

2. Fujian Product Quality Inspection and Research Institute(National Processed Food Quality Inspection and Testing Center), Fuzhou, Fujian 350015, China)

Abstract: This experiment improved the accuracy of myo-inositol detection in aquatic premixes by incorporating water extraction-alcohol precipitation to remove impurities. After precipitation and centrifugation, the samples were derivatized and extracted with isooctane for GC analysis, effectively reducing interference from impurities and reducing instrument damage. The results demonstrated excellent linearity within the range of 0.01~0.2 mg, with a detection limit(3S/N) of 1.0×10^{-4} mg. The method showed good precision(RSD $\leq 5\%$) and reproducibility, with spike recovery rates ranging from 94.1% to 108%, meeting the requirements for myo-inositol quantification in aquatic premixes.

Key words: Myo-inositol; water extraction-alcohol precipitation; aquatic premixes; gas chromatography(GC)

引言

肌醇(环己六醇)广泛存在于动植物体内, 是动物与微生物生长所必需的维生素B族成员之一^[1]。水产饲料中添加肌醇, 可有效预防鱼类皮肤损伤、体表出血和鳍条糜烂, 显著提高增重速度、改善消化功能、减轻脂肪肝并增强免疫力^[2-4]。然而, 有些气相色谱法^[5-7]多直接以水提取-干燥-复溶后衍生

进样, 缺乏除杂净化, 易引入杂质, 既堵塞进样针, 又在FID检测器中产生干扰峰, 影响定量准确性。水提醇沉法通过向水相中加入乙醇, 改变杂质溶解度, 使多糖、蛋白、淀粉等沉淀析出^[8-10]; 若分次或提高乙醇比例, 除杂效率可进一步提升, 为后续气相色谱分析提供洁净样本。本实验用水提醇沉法除去蛋白、糖类等杂质, 以期找到简单、方便、准确的方法优化前处理步骤, 减少杂峰干扰问题, 提高实

收稿日期: 2025-07-28

第一作者简介: 张雅云(1989—), 女, 助理工程师, 研究方向: 产品检测。Email: 1292876369@qq.com

通讯作者简介: 吴凌(1979—), 男, 高级工程师, 研究方向: 食品、饲料、化妆品等气相气质分析。Email: supermanok971@163.com

验准确度,降低样品对仪器的损伤。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

气相色谱仪配氢火焰离子化检测器(GC-FID):GC 7890N型,美国安捷伦公司。

ZB-5MS毛细管色谱柱:30 m×0.25 mm×0.25 μm, Phenomenex。

多位试管涡旋振荡器摇床和混匀器:Multi Reax型,德国 Heidolph。

溶剂蒸发仪:EZ-2型,英国 Genevac。

探针式超声波处理器:AS型,昆山超声仪器有限公司。

高速冷冻离心机:Heraeus Multifuge X3R型, Thermo Scientific。

无水乙醇、N,N-二甲基甲酰胺、异辛烷:色谱纯,国药集团化学试剂有限公司。

三甲基氯硅烷、六甲基二硅氨烷:色谱纯,麦克林。

无水硫酸钠:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

肌醇:99.0%,德国 DR。

1.2 实验方法

1.2.1 仪器工作条件

色谱柱:ZB-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm);柱流量:1.0 mL/min;进样口温度:270℃;进样量:1 μL,分流比为10:1;程序升温条件:初始柱温为100℃,保持1 min;以10℃/min升至220℃,保持6 min;以30℃/min升至280℃,保持2 min。FID检测器温度:300℃;H₂(纯度不小于99.99%)流速:30 mL/min;空气流量:400 mL/min;尾吹气流速:30 mL/min;进样量:1 μL;定量方法:峰面积外标法。

1.2.2 标准溶液配制

(1)肌醇标准贮备液:准确称取已在105℃条件下烘至恒重的肌醇标准品0.104 75 g,用去离子水溶解,并稀释定容至100 mL,混匀后浓度为1.0 mg/mL。

(2)肌醇标准工作液:分别吸取肌醇标准贮备液10.0 μL、20.0 μL、40.0 μL、60.0 μL、80.0 μL、100.0 μL、200.0 μL于20 mL顶空瓶中,置于EZ-2溶剂蒸发仪中减压浓缩(80℃),则标准工作液中肌醇含量为0.01 mg、0.02 mg、0.04 mg、0.06 mg、0.08 mg、0.1 mg、0.2 mg。

(3)衍生剂的配制:三甲基氯硅烷、六甲基二硅氨烷按体积比1:2混合均匀,密封超声待白色气体全部收缩后使用,现配现用。

1.2.3 样品前处理

(1)样品水提和醇沉净化

准确称取约2.0 g(105℃烘干至恒重)的样品置于100 mL容量瓶中,加入25 mL水,高转速涡旋5分钟,40℃超声30 min,使样品溶解完全或分散均匀,冷却至室温后,缓慢加入无水乙醇定容混匀后,25℃超声待沉淀完全后高速8 000 r/min离心3 min。

(2)样品干燥

取1.0 mL上清液于顶空瓶中,置于多孔位EZ-2溶剂蒸发仪中减压浓缩(80℃,水溶剂模式)蒸发至干。若后续实验结果中出现肌醇含量超过线性最高浓度,可在该步骤用无水乙醇稀释上清液10倍或100倍后再取1.0 mL进行减压浓缩。

(3)硅烷基化衍生

上述浓缩至干的样品、1.2.2(2)浓缩至干的标准工作液经105℃烘干1 h,冷却后加入2 mL N,N-二甲基甲酰胺,加盖(该步骤注意防水),于超声机上超声至完全溶解或分散。加入1 mL衍生试剂,封口置于80℃水浴1 h,冷却至室温;加入3 mL去离子水和5 mL异辛烷,封口后放入多位试管涡旋振荡器上高速涡旋2 min,若出现乳化现象则置于离心机上4 000 r/min离心3 min至分层后取上清液上机测试。

(4)按NY/T 1345-2007《添加剂预混合饲料中肌醇的测定》方法进行前处理

准确称取约2.0 g(105℃烘干至恒重)的样品置于100 mL容量瓶中,加水约70 mL,混摇,在40℃水浴上加热10 min提取,在涡旋混合器上振荡10 min,冷却至室温,用水定容至100 mL,中速滤纸过滤,吸取1.0 mL滤液于试管中,加入1~2 mL无水乙醇,100℃水浴中浓缩至干。

硅烷基化衍生同1.2.3(3)。

(5)不同乙醇加入量的醇沉净化

分别准确称取7组约2.0 g(105℃烘干至恒重)的样品置于100 mL容量瓶中,加入20 mL水,高转速涡旋5分钟,在超声机上40℃超声30 min,使样品溶解完全或分散均匀,冷却至室温后,分别缓慢加入50 mL、55 mL、60 mL、65 mL、70 mL、75 mL、80 mL无水乙醇,用水定容混匀后25℃超声待沉淀完全后,高速8 000 r/min离心3 min。样品干燥步骤同

1.2.3(2), 硅烷基化衍生步骤同 1.2.3(3)。

2 结果与讨论

2.1 水产饲料水提条件

水产类饲料含有较多的营养, 水溶太快会造成鱼虾进食前溶化、水体浑浊等问题, 因此一般的水产类饲料有较慢的溶水速度。在本实验样品称量的基础上加入 5、10 mL 去离子水易出现样品润湿不够、结块、溶解不完全等问题; 加入 15、20 mL 以上去离子水, 样品达到较好的溶解效果。去离子水体积越大, 样品溶解性越好。由于要兼顾考虑到醇沉的效果, 本实验加入 25 mL 去离子水高转速涡旋 5 min 使样品分散均匀, 在超声机上 40℃ 超声 30 min 保证样品溶解完全。

2.2 水产饲料醇沉条件

本研究系统考察了乙醇浓度对杂质去除效果的影响。实验结果表明, 乙醇加入量与沉淀效果呈正相关趋势: 随着乙醇浓度增加(步骤 1.2.3(5) 梯度设置为 50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%), 沉淀生成量逐渐增多, 杂质去除效果逐步提升。当乙醇浓度达到 75% 时, 样品已基本沉淀充分; 继续提高浓度至 80%, 杂质去除能力未呈现显著提升, 表明在此浓度区间内, 沉淀反应已趋于平衡。为避免因乙醇加入速度过快导致沉淀物包裹杂质、造成目标成分损失, 本研究采用缓慢加入乙醇的方式, 确保沉淀过程均匀、充分。待沉淀完全后, 经离心分离, 最终获得杂质含量低的样品提取物, 为后续分析提供了基础。

2.3 标准溶液及样品衍生后气相色谱图

如图 1、图 2 和图 3, 在 1.2.1 仪器工作条件下, 肌醇衍生物的出峰时间为 13.09 min。图 1 是肌醇标准品在该仪器条件下的衍生色谱图, 峰型尖锐对

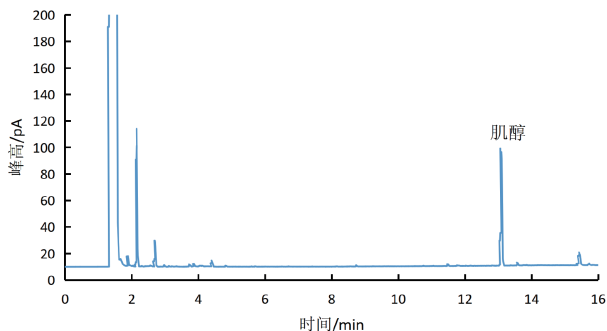


图 1 肌醇标样($C=0.2$ mg)衍生后的气相色谱图

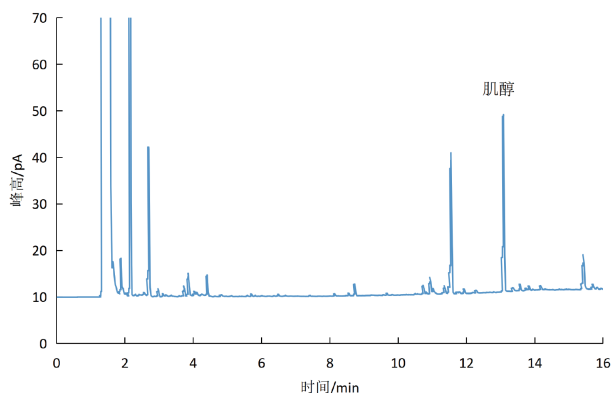


图 2 样品按 NY/T 1345-2007 处理的样品衍生后气相色谱图(该样品中肌醇含量为 4.0 g/kg)

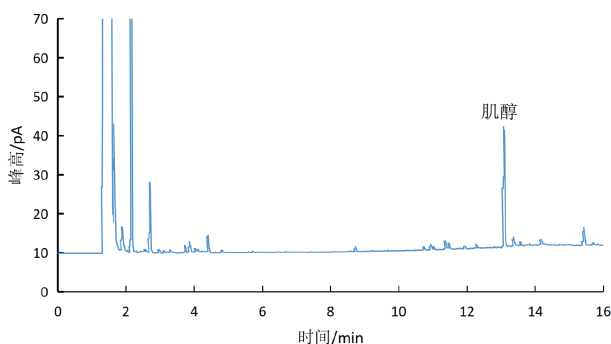


图 3 经本实验水提醇沉净化后样品衍生气相色谱图(该样品中肌醇含量为 4.0 g/kg)

称, 分离良好。图 2 是未经醇沉净化样品用水溶解定容至 100 mL 后按 1.2.3(2) 及 1.2.3(3) 浓缩、干燥、衍生后的气相色谱图, 有明显的杂质峰, 图 3 是经过本实验水提醇沉净化后的样品衍生色谱图, 杂峰数明显降低。

2.4 分析方法的线性关系

按照实验 1.2.2 进行标准曲线配制以及 1.2.3(3) 方法进行衍生上机进样, 以肌醇标准工作液的含量为横坐标, 出峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线如图 4。图 4 所示肌醇在 0.01~0.2 mg 范围内线性良好, 线性回归方程为 $A=1221x+0.4197$, $R^2=0.9981$, 检出限($3S/N$)为 1.0×10^{-4} mg。

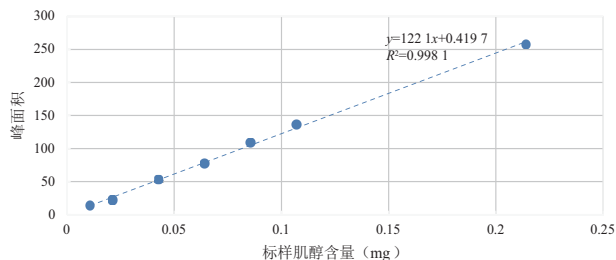


图 4 肌醇标样衍生后的标准曲线

2.5 实际样品检测及精密度实验和加标回收率实验

将4种水产预混料分别各取6份,按标准NY/T 1345-2007处理未经净化测得的数据和经本实验水提醇沉法净化后测得的数据见表1,从表1可得两者结果相近。二者检测时重复性良好,精密度RSD

均≤5%,满足实验要求。样品3称取2 g×18份分别添加肌醇2 mg、4 mg、8 mg各6份进行水提醇沉净化法加标回收实验,其回收率在94.1%~108%(具体实验结果见表2),均满足实验要求。

表1 按NY/T 1345-2007处理和本实验水提醇沉前处理法对实际样品中肌醇含量的测定结果

		平行测量六次结果(g/kg)	平均值(g/kg)	RSD(%)
NY/T 1345-2007前处理法	样品1	4.05;3.92;4.03;3.93;4.04;4.25	4.04	2.94
	样品2	2.52;2.65;2.57;2.57;2.47;2.44	2.54	2.99
	样品3	0.858;0.866;0.842;0.821;0.855;0.839	0.847	1.91
	样品4	0.832;0.790;0.813;0.784;0.820;0.776	0.803	2.77
本实验水提醇沉前处理法	样品1	4.11;4.12;3.96;3.76;4.05;4.06	4.01	3.43
	样品2	2.72;2.71;2.61;2.59;2.70;2.76	2.68	2.49
	样品3	0.891;0.849;0.897;0.849;0.841;0.877	0.867	2.79
	样品4	0.835;0.837;0.808;0.824;0.788;0.794	0.814	2.57

表2 水提醇沉法处理后肌醇加标回收率实验结果及RSD(n=6)

加标后检测结果(g/kg)	加标量	2 mg	4 mg	8 mg
	1	1.78	2.45	4.88
	2	1.82	2.75	4.71
	3	1.97	2.67	4.87
	4	1.73	2.49	4.99
	5	1.77	2.70	5.03
	6	1.78	2.54	5.17
回收率(%)	1	94.1	101	102
	2	96.0	106	101
	3	102	105	102
	4	98.6	101	107
	5	100	107	108
	6	100	103	108
	平均值	98.4	104	105
RSD(%)		2.90	2.55	3.27

注:原样品中肌醇含量以0.867 g/kg计。

3 结论

本实验采用气相色谱法测定水产饲料中的肌醇,通过优化前处理方法,增加了醇沉净化步骤,选择对环境污染小低毒的乙醇作为醇沉溶剂。结合

水产饲料的溶解性等特点,先进行水溶解提取后边摇晃边缓慢加入乙醇,使乙醇含量达到75%进行沉淀后分离杂质,减少杂质峰的干扰和对仪器的损伤,降低基质效应,提高检测准确度。运用多孔位浓缩仪可使多个样品同时进行浓缩,实现批量处理,减少人力物力。同时经过水提醇沉净化法改良后的气相色谱法重复性、精密度和回收率均能满足实验要求,为水产类饲料中肌醇的检测提供一种有效的技术支持。

参考文献

[1] 杨杰,杨奇慧,谭北平,等. 水生动物肌醇营养研究进展[J]. 动物营养学报,2015,27(3):715-721.

[2] 田娟,文华,郜卫华,等. 肌醇对大规格吉富罗非鱼生长、体组成和血清指标的影响[J]. 南方水产科学,2018,14(02):83-89.

[3] 刘波. 淡水虾功能饲料的研发与产业应用(四)[J]. 科学养鱼,2025(3):1-3.

[4] 罗晨皓,缪凌鸿,林艳,等. 不同方法制备的肌醇对建鲤幼鱼生长性能、生理和肠道炎症应答的影响[J]. 水产学报,2023,47(6):51-61.

[5] 蓝燕玲,潘云山,温才洁,等. 气相色谱法测定维生素预混料中肌醇的含量[J]. 山东化工,2024,53(17):177-180.

[6] 吴凌. 衍生气相色谱法测定渔用预混料中肌醇的含量[J]. 饲料工业,2017,38(06):57-60..

[7] 杜雪莉,饶瑾瑜,张凤枰,等. 气相色谱法测定水产预混合

- 饲料中肌醇含量的不确定度评定[J]. 中国渔业质量与标准, 2015, 5(05): 61-66.
- [8] 田博宇, 焦英帅, 姚亚亚, 等. 超声波辅助亚麻籽粕醇法脱色的研究[J]. 中国粮油学报, 2019, 34(5): 73-77, 82.
- [9] 席晓志, 郭莎莎, 王婉卿, 等. 白藜蘆水提取物抗疲劳功效

的研究[J]. 中国食品添加剂, 2018(8): 98-104.

- [10] 叶麟. 干无花果中多糖的提取纯化、结构表征及其体内外调节免疫活性作用与机制研究[D]. 四川: 四川农业大学, 2024.

(上接第31页)

出良好的线性关系, 相关系数均 >0.999 , 表明所有方法在定量分析中具有可靠的线性响应; 三种方法的平均回收率均在95%以上, 且对标准物质(GBW09109n、GBW09110i)的检测结果均落在证书值范围内, 说明不同方法在准确度上具有一致性。全自动碘分析仪法操作简单, 仪器自动完成样本前处理、反应和检测, 试剂盒预封装, 减少环境风险和对人体健康影响, 仪器标准化程度高, 减少人为误差, 检测结果准确, 重现性好, 适合批量检测。铈铈催化分光光度法方法成熟, 基于经典的催化反应原理, 使用的仪器设备简单, 但需手动配制试剂、控制反应条件(温度、时间), 步骤复杂, 操作易引入偏差, 结果稳定性依赖实验员经验, 高浓度碘可能超出线性范围, 需稀释样本, 适合基层实验室或资源有限的地区。电感耦合等离子体质谱法具有超高灵敏度和准确性, 可检测痕量碘, 结果精确; 质谱法特异性高, 受基质干扰小, 抗干扰强, 宽线性范围, 适合不同浓度样本, 无需频繁稀释, 但购置、维护和运行成本极高, 技术要求高。

3种检测方法的线性相关系数、检出限、精密度、准确度、加标回收率均达到生物制品检测要求^[11], 全自动碘分析仪法因其自动化程度高、通量大、稳定性好, 适合大批量样本筛查, 铈铈催化分光光度法适合基层实验室或资源有限的地区, 电感耦合等离子体质谱法使用于科研或高精度需求实验室。

参考文献

- [1] 江喜桥, 范小飞, 陈明明, 等. 全自动碘分析仪检测尿碘方法验证与分析[J]. 中国地方病防治, 2024, 39(5): 382-385.
- [2] 阙香宝, 刘玉红, 娄昆雷. 全自动碘分析仪在尿碘考核中的应用分析[J]. 中国地方病防治, 2022, 37(4): 320-322.
- [3] 刘玮, 赵爱珠, 魏明敏, 等. 2020年渭南市碘缺乏病监测情况分析[J]. 医学动物防制, 2022, 38(9): 890-894.
- [4] 王小琴, 刘艳, 邢雪岩, 等. DAT-50S碘元素自动检测仪与铈铈催化分光光度法测定尿中碘的方法比对[J]. 中国地方病防治, 2022, 37(01): 35-36.
- [5] 王慧, 李达, 李园园, 等. 全自动尿碘分析仪测定尿碘的方法讨论[J]. 实验室检测, 2024, 2(08): 94-98.
- [6] 邢海涛, 范建彬, 蒋定国, 等. 纯水直接稀释-电感耦合等离子体质谱法测定尿碘的方法研究[J]. 中华地方病学杂志, 2025, 44(08): 679-683.
- [7] 王璐, 周讯, 王小琴, 等. 碘元素全自动检测仪仪器法与行标法测定尿碘对比实验结果分析[J]. 中国地方病防治, 2023, 38(2): 141-143.
- [8] 李海杰, 陈琴, 陈艳芳. 全自动碘分析仪测定尿碘结果分析[J]. 海峡预防医学杂志, 2021, 27(4): 74-76.
- [9] 蔡生花, 胡兰盛, 孟献亚, 等. 碘元素自动检测仪检测尿碘结果分析[J]. 中国地方病防治, 2022, 37(6): 502-504.
- [10] 张念恒, 杨宇, 林广初, 等. 碘元素全自动检测仪对比试用结果分析[J]. 微量元素与健康研究, 2018, 35(4): 66-67.
- [11] 中华人民共和国卫生部. 职业卫生标准制定指南 第5部分: 生物材料中化学物质的测定方法: GBZ/T 210. 5—2008[S]. 北京: 人民卫生出版社, 2008.